

(4)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-264297

(43)Date of publication of application : 26.09.2001

(51)Int.Cl.

G01N 27/64
G01N 1/10
G01N 27/62
G01N 30/72
H01J 49/04
H01J 49/06
H01J 49/40
// C12M 1/00
C12N 15/00

(21)Application number : 2000-077763

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 15.03.2000

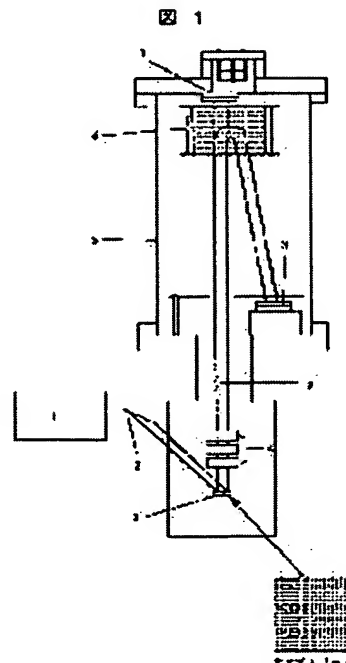
(72)Inventor : AKAMATSU NAOTOSHI
OTANI TOSHIAKI
IBE HIDEFUMI

(54) METHOD AND DEVICE FOR ANALYZING SAMPLE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To quickly carry out mass spectrometry on a great number of samples for structural analysis of DNA or protein.

SOLUTION: Mass spectrometry is carried out by detecting an ion 9 released from each sample 3 by means of two-dimensional detectors 7, 8 via an ion lens 4, and mass spectra of a plurality of samples can be obtained at once.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

BEST AVAILABLE COPY

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-264297

(P 2 0 0 1 - 2 6 4 2 9 7 A)

(43) 公開日 平成13年 9月26日 (2001. 9. 26)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード ⁷	(参考)
G01N 27/64		G01N 27/64	B 4B029	
1/10		1/10	G 5C038	
27/62		27/62	K	
			X	
30/72		30/72	Z	
審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 5 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願2000-77763 (P 2000-77763)

(22) 出願日 平成12年 3月15日 (2000. 3. 15)

(71) 出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目 6 番地

(72) 発明者 赤松 直俊

神奈川県横浜市戸塚区吉田町292番地 株
式会社日立製作所生産技術研究所内

(72) 発明者 大谷 俊明

神奈川県横浜市戸塚区吉田町292番地 株
式会社日立製作所生産技術研究所内

(74) 代理人 100075096

弁理士 作田 康夫

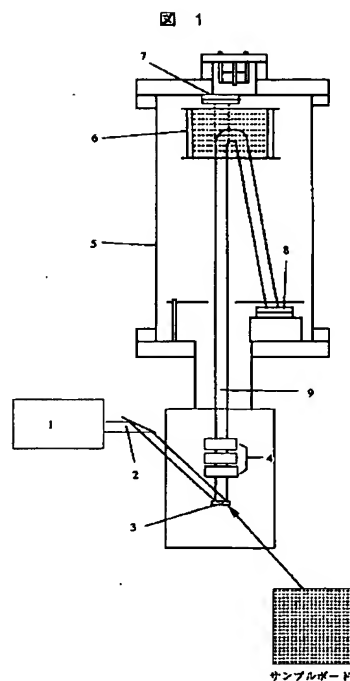
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試料分析方法及び装置

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 DNA、蛋白質の構造解析として、多数の試料を迅速に質料分析すること。

【解決手段】 イオンレンズ4により各試料3から脱離するイオン9を2次元検出器7、8で検出、質量分析を行い、複数の試料の質量スペクトルを一括して得る。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 レーザビームを試料に照射し、脱離／イオン化した物質を飛行時間質量分析する分析法において、試料を搭載するサンプルボード表面上の異なる複数の位置に各試料を配置し、該複数の試料を含む領域にレーザビームを照射、レーザビームにより脱離／イオン化してきたイオンを、イオンレンズ光学系で検出部に 1 次元又は 2 次元的に結像させ、1 次元又は 2 次元検出器でイオンを検出、複数の試料を同時に質量分析する、試料分析方法。

【請求項 2】 請求項 1 において、試料として分析対象物質とレーザ光を吸収するマトリックスを混合させた物を用いる分析方法。

【請求項 3】 請求項 1 において、薄層クロマトグラフィ、電気泳動、液体クロマトグラフィ等の成分分離手法で分離した各成分をサンプルボード上の異なる位置に展開し、展開した各成分を一括質量分析する分析方法。

【請求項 4】 請求項 1 において、薄層クロマトグラフまたは電気泳動により成分分離展開したプレートを試料とし、プレート上異なる部位に展開した各成分の質量分析を同時に行うことを特徴とする試料分析方法。

【請求項 5】 請求項 1 において、電気泳動により成分分離展開したプレートを試料とし、プレート上異なる部位に展開した各成分の質量分析を同時に行うことを特徴とした試料分析方法。

【請求項 6】 複数の試料を搭載するサンプルボードとそのサンプルボード上に搭載した複数試料の少なくとも 2 つ以上の試料を同時に脱離／イオン化させるためのレーザ及びレーザ光照射手段と飛行時間質量分析計とイオンレンズ光学系と脱離したイオンを検出する 2 次元検出器を備え、イオンレンズ光学系により、サンプリングボード上の脱離した位置に応じ、検出器上に一次元または 2 次元的に結像させるようにしたことを特徴とした質量分析装置。

【請求項 7】 請求項 6 において、サンプルボードから脱離／イオン化したイオンのうち、一つまたは複数の特定質量数のイオンのみを検出する機構を備えた装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、DNA、蛋白質等の生体分子の分子構造を分析、解析する装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 質量分析法は DNA、蛋白質の構造解析に欠かせない手段である。質量分析の中でも最新のマスペクトロメトリ（化学同人）15-17 ページ記載のレーザ脱離／イオン化質量分析計は、蛋白質、DNA 等の巨大高分子をイオン化できるため、生体分子の有用な解析手段として注目されている。数社から装置も市販されている。

【0003】 レーザ脱離／イオン化質量分析は分析したい試料部位にレーザを照射し、そこから脱離してきた成分を質量分析することにより、試料分子の質量数を決定する。

【0004】 質量分析による DNA、蛋白質等の生体分子の構造解析／決定には、分析対象を多数の成分に分離精製し、さらに個々の成分を制限酵素で断片化したものを分析する必要がある、非常に多数の試料を迅速に分析しなければならない。また、DNA 診断においては、多数の人間から得た試料を迅速に処理する必要がある。

【0005】 それに対し市販されている一般的なレーザ脱離／イオン化質量分析装置は、図 6 にしめすよう、サンプルボードにサンプリングした各それぞれの試料を一個ずつ質量分析していく。すなわちサンプリングした試料各点にレーザを照射し一個ずつ分析していくため、多数の試料を迅速に分析することは非常に困難である。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 DNA、蛋白質の構造解析には、多数の試料を迅速に質量分析行うことが重要である。

【0007】 本発明の目的は多数の試料を同時に質量分析する手段を提供し、前記課題を解決することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】 上記目的の為に、分析したい試料をサンプルボード上に 2 次元的に配置する。

【0009】 そのサンプルボード全面にレーザを照射、生成するイオンをイオンレンズ光学系で検出器上に 2 次元的に結像し、2 次元検出器で検出する。この方式により、各試料の質量スペクトルを同時に得ることが可能となる。

【0010】 多数の DNA、蛋白質等の生体分子の構造解析を迅速に行うことが可能となる。

【0011】

【発明の実施の形態】 図 1 に本実施例の系統図を示す。1 は試料脱離、イオン化用のレーザ、2 はレーザビーム、3 は試料搭載用のサンプルボード、9 は試料から脱離したイオンビーム、4 はイオンビーム 9 の引き出し、加速及び検出器への結像を行うためのイオンレンズ、5 は飛行時間型質量分析計、6 はイオンビーム反射用のリフレクトロン、7、8 は 2 次元検出器である。

【0012】 図 2 にサンプルボードを上面から見た図を示す。図 2 のサンプルボードの各点に分析対象の試料を搭載する。本実施例で用いたサンプルボードは面内に 1 万点の資料を搭載できる。サンプルボードのサイズは 100mm×100mm である。従って各試料は 1mm 間隔でサンプルボードに搭載される。また試料のサイズは約 0.1mm～0.17mm 程度となるようにした。

【0013】 レーザビーム 2 はサンプルボードの一部または全面に照射される。ここでサンプルボード上のレーザ照射径の調整は凸レンズと凹レンズからなるビームイ

クスパンダにより行う。本実施例ではレーザとしてXeClエキシマレーザを採用したが、充分な出力さえあればどのようなレーザを用いてもよい。レーザの照射によりサンプルボードの各部分から各分析対象試料が脱離／イオン化する。生成したイオンを、イオンレンズ光学系4で加速して飛行時間質量分析計へ送り込む。このイオンレンズ光学系4は、サンプルボードの上のある点から脱離／イオン化したイオンを、検出器上の対応する位置に結像する。結像の概念を図3に示す。サンプルボード上のaから脱離したイオンはやや広がりをもってイオンレンズ4に入射する。そこでイオンレンズの結像能力により、2次元検出器上のa'にaから脱離したイオンが収束する。別の点bから脱離したイオンは2次元検出器の別の点b'に収束する。このようにサンプルボード上の各点から脱離したイオンは2次元検出器上それぞれ対応する各点に収束するようなイオンレンズ光学系を本発明は備えている。本実施例で使用したイオンレンズは静電レンズであるアインツェルレンズである。このレンズは3つの電極からなり、このレンズの電圧をそれぞれ適当に調整することにより上記イオン結像の機能とイオン引き出し及び加速の機能を持たせる。

【0014】飛行時間質量分析計は、検出器に到達する時間で、質量スペクトルを得る。2次元検出器は検出器上の各点それぞれに到達したイオンを検出し、電気的パルス信号として出力する。時間－振幅変換器等を用いて各点の飛行時間すなわち、各点でのマススペクトルを同時に得ることができる。検出器上の各点はサンプルボード上の各点に一一対対応する。従って、この方法でサンプルボード上の各点のマススペクトルを同時に測定することができる。本実施例では検出器として、マイクロチャンネルプレートを前段に備える位置検出型半導体を使用した。

【0015】本実施例により多数の試料の質量スペクトルを同時に得ることができDNAや蛋白質の迅速な構造解析が可能となる。

【0016】1万人分のDNAの単一ヌクレオチド置換を調べることを例にあげ測定の手順を以下に示す。各人から得たDNAを適当なマトリックスに混合し、各人それぞれのDNAをサンプリングボードの異なる位置に滴下して搭載する。その後マトリックスとDNAの混合の際用いた溶媒が乾燥してから、測定装置にサンプルボードを導入する。測定装置に導入した後、サンプルボード全体にエキシマレーザ光をできるだけ均一に照射する。それにより各点に滴下した各人のDNA分子が一斉に脱離／イオン化し、イオン化したDNA分子をイオンレンズで加速して飛行時間質量分析計に導入する。各人のそれぞれのDNA

A分子イオンは、サンプリングボード上の位置に従って2次元検出器上の別々の位置に到達するので、イオンの検出器上各位置にイオンが到達した時間と検出器の位置と記録すれば、一万人各人それぞれのDNAの分子量を一斉に計測できる。従って非常に迅速な分析が可能である。

【0017】別の実施例の形態を以下に述べる。DNA診断では診断対象のDNA部が特定塩基配列であるか否かを判別すれば良い場合も多い。この場合診断対象のDNAが特定塩基配列のDNAの質量数に一致するかどうかのみを判定すれば良い。この実施例の図を図4に示す。基本的には前記した実施例の装置構造と同じであるが、飛行時間質量分析計5の中に電極10を付加してある。電極の位置はリフレクトロン6の前でも後でもよいが、ここではより精密に質量選択可能なようリフレクトロンの後に配置する。この電極に瞬間的に電場を加え、検出したいイオン以外を排除するようにする。この方式により特定の質量数のDNAのみを検出できる。この実施例では、必要最小限の情報のみを得ることができ、検出器、信号処理、データ解析システムが簡便となる。

【0018】また実施例の別の形態として電気泳動や薄層クロマトグラフで分離した成分の質量分析を同時に行うことも可能である。図5のようにゲル電気泳動で各成分を展開した後、この電気泳動の担体をサンプルボード3のかわりに用いることにより、電気泳動で分離した各点の成分の質量スペクトルを迅速に得ることができる。

【0019】電気泳動の例をここでは述べたが、薄層クロマトグラフ他のクロマトグラフの手法でも、サンプルボード上に1次元あるいは2次元上にサンプリング展開することにより、該クロマトグラフで分離した各成分の質量スペクトルを迅速に得ることができる。

【0020】

【発明の効果】これまで記した方法により、多数の試料の質量分析を同時に行うことができ、DNAや蛋白質の解析を迅速に行うことが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】発明実施例の系統図である。

【図2】サンプルボードを示す図である。

【図3】イオン結像の様子を示す図である。

【図4】発明実施例の系統図である。

【図5】電気泳動への適用図である。

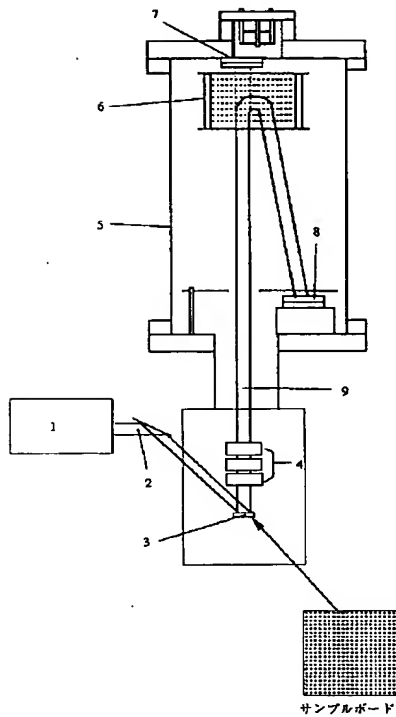
【図6】従来技術を説明する図である。

【符号の説明】

1…レーザ、2…レーザ光、3…試料、4…イオンレンズ、5…飛行時間質量分析計、6…リフレクトロン、7…検出器、8…検出器、9…イオン、10…電極。

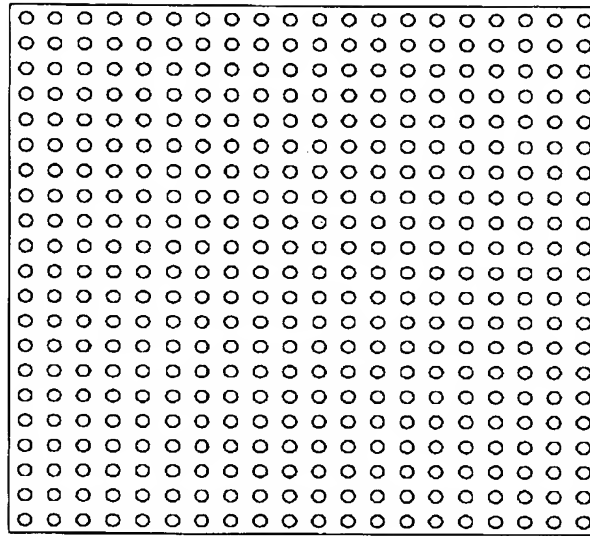
【図 1】

図 1



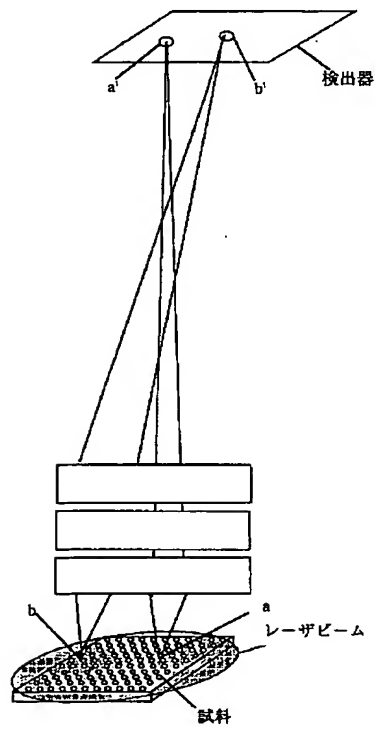
【図 2】

図 2



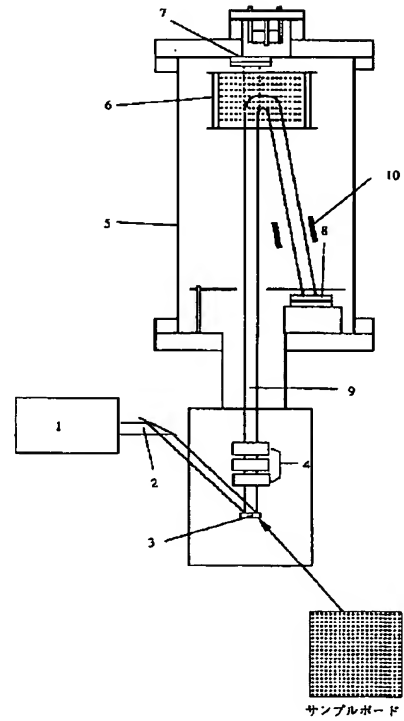
【図 3】

図 3



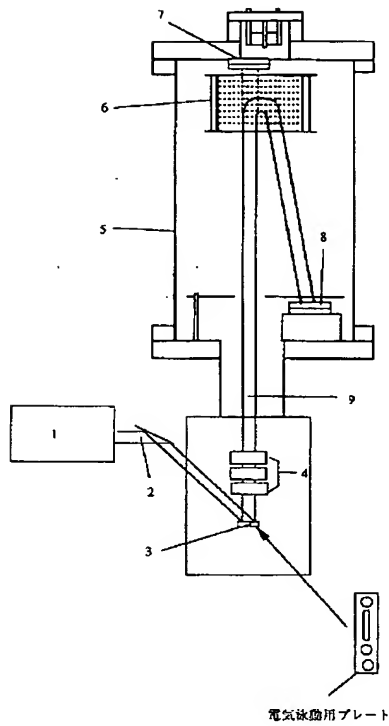
【図 4】

図 4



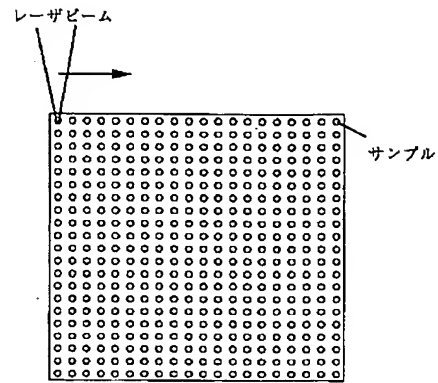
【図 5】

図 5



【図 6】

図 6



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	ターマコード (参考)
H 0 1 J	49/04	H 0 1 J	49/04
	49/06		49/06
	49/40		49/40
// C 1 2 M	1/00	C 1 2 M	1/00 A
C 1 2 N	15/00	C 1 2 N	15/00 Z

(72) 発明者 伊部 英史
 神奈川県横浜市戸塚区吉田町292番地 株
 式会社日立製作所生産技術研究所内

F ターム (参考) 4B029 AA07 FA15
 5C038 EE02 EF15 EF17 EF21 FF04
 FF07